壳寡糖对氧化应激仔猪生长性能、抗氧化能力及空肠养分消化和转运能力的影响

田 刚 黄琳惠 宋晓华 陈代文 毛湘冰 虞 洁 郑 萍 何 军 余 冰*

（四川农业大学动物营养研究所，动物抗病营养教育部重点实验室，成都 611130）

摘 要：本研究旨在研究饲粮添加壳寡糖（COS）对正常饲养和氧化应激仔猪生长性能、抗氧化能力及空肠养分消化和转运能力的影响。选择 24 日龄、平均体重（7.34±0.09） kg 的健康“杜×长×大”断奶仔猪 24 头，按照 2×2 双因子试验设计，随机分为对照组、COS 组、敌草快（diquat）组和 COS+diquat 组，每组 6 个重复，每个重复 1 头仔猪。试验期 28 d。饲粮 COS 添加量为 50 mg/kg，饲喂贯穿试验全程，于试验第 22 天进行一次性腹腔注射 10 mg/kg 体重的 diquat，无腹腔注射 diquat 试验猪注射等量生理盐水。于试验第 18~21 天采用内源指示剂法进行消化试验，第 22 天早上试验猪空腹前腔静脉采血后再进行 diquat 处理，第 29 天早上试验猪前腔静脉采血后屠宰取空肠黏膜样品待测。结果表明：1）注射 diquat 前，饲粮添加 COS 对仔猪的平均日增重（ADG）和平均日采食量（ADFI）无显著影响（$P>0.05$），但有降低料重比（F/G）的趋势（$P=0.09$）；显著升高仔猪对饲粮干物质、有机物、粗蛋白质、粗脂肪、能量、粗灰分、钙和磷的表观消化率（$P<0.05$）；显著升高血浆超氧化物歧化酶（SOD）活性和总抗氧化能力（T-AOC）（$P<0.05$）。2）注射 diquat 极显著降低仔猪的 ADG 和 ADFI（$P<0.01$），极显著升高 F/G（$P<0.01$）；饲粮添加 COS 显著抑制注射 diquat 导致的 ADG 的下降（$P<0.05$）。3）注射 diquat 极显著降低仔猪的血浆过氧化氢酶（CAT）活性（$P<0.01$），显著降低空肠黏膜乳糖酶、蔗糖酶、麦芽糖酶的活性和葡萄糖转运载体 2（*GLUT*2）、钠/葡萄糖转运载体 1（*SGLT*1）的 mRNA 表达量（$P<0.05$）；饲粮添加 COS 显著升高氧化应激仔猪的血浆 SOD 活性和 T-AOC（$P<0.05$），显著缓解空肠黏膜二糖酶活性的降低及 *GLUT*2 和 *SGLT*1 mRNA 表达量的下调（$P<0.05$）。由此可见，正常饲养条件下，饲粮添加 50 mg/kg COS 可显著改善仔猪对饲粮的养分消化率和机体的抗氧化能力，有降低

收稿日期：2017-12-13

基金项目：国家自然科学基金项目（31372324）；四川省科技支撑计划项目（2016NZ006）

作者简介：田 刚（1974—），男，重庆黔江人，副教授，博士，从事单胃动物营养研究。

E-mail: tgang2008@126.com

*通信作者：余 冰，教授，博士生导师，E-mail: ybingtian@163.com

F/G 的趋势；氧化应激条件下，COS 可通过改善机体的抗氧化能力，缓解 diquat 诱导的氧化应激，提高应激仔猪的空肠养分消化和转运能力，缓解氧化应激导致的增重下降。

关键词：壳寡糖；断奶仔猪；抗氧化；空肠黏膜；养分消化和转运

中图分类号：S828

养猪生产中，许多因素会导致猪体内产生大量自由基，如饲料霉菌毒素污染、高温、病毒感染、断奶等；当过量自由基在体内得不到及时清除而大量蓄积时，体内氧化–抗氧化防御系统平衡被打破，引发机体氧化应激。氧化应激会导致动物免疫力降低，生产性能下降，产品品质变差，甚至出现死亡，带来严重的经济损失[1-2]。因此，寻求能有效保护仔猪免遭氧化应激危害的功能性产品是仔猪营养领域研究的热点之一。壳寡糖（chitooligosaccharides，COS）是由甲壳素的脱乙酰产物壳聚糖降解获得的低聚糖，由 2~10 个氨基葡萄糖通过β-1,4-糖苷键连接而成[3]。研究表明，COS 具有多种生物活性，且相对于壳聚糖，具有分子质量小、黏度小、易溶于水、无毒副作用等优点[4]。体外试验已证实 COS 能降低细胞氧化应激[5]。体内试验也发现，饲粮添加 COS 能提高动物的免疫力和生产性能[6-7]，减少仔猪肠道有害菌数量，降低腹泻率[8-9]。在肉鸡饲粮中添加 COS 能显著提高其抗氧化能力[10]。但是，当仔猪遭受刺激产生氧化应激时，COS 的抗氧化保护效应尚不清楚。因此，本研究拟验证正常饲养条件下，仔猪饲粮添加 COS 的基础上，通过一次性腹腔注射 10 mg/kg 体重敌草快（diquat）建立仔猪氧化应激模型，进而研究 COS 对氧化应激状态下仔猪生长性能、抗氧化功能及空肠养分消化和转运能力的影响，为 COS 在仔猪饲粮中的合理应用提供试验依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

COS 由北京中泰和生物科技有限公司提供，产品名为寡糖素——COS（Ⅱ），有效含量为 10%，载体为麦芽糊精。

Diquat 购自 Sigma-Aldrich 公司（上海），使用时用灭菌生理盐水配成 10 mg/mL 的 diquat 溶液。

1.2　试验设计与试验动物

采用 2×2 双因子试验设计，腹腔是否滴注 diquat（0、10 mg/kg 体重）和饲粮中是否添加 COS（0、50 mg/kg）为 2 个主效应，共形成 4 个组（对照组、COS 组、diquat 组和 COS+diquat

组）。选取 24 日龄、平均体重（7.34±0.09） kg 的健康“杜×长×大”断奶仔猪 24 头，根据体重相近原则随机分为 4 个组，每组 6 个重复，每个重复 1 头猪。试验期 28 d。其中 COS 从试验第 1 天开始添加，直至试验结束；腹腔注射 diquat 于试验第 22 天进行，无腹腔注射 diquat 试验猪注射等量生理盐水。仔猪全程单笼饲养。

1.3 试验饲粮

基础饲粮参照 NRC（2012）7~11 kg 和 11~25 kg 仔猪营养需要进行配制，其组成及营养水平见表 1。在基础饲粮中添加试验设计剂量的 COS 构成试验饲粮。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	30.48
膨化玉米 Extruded corn	25.00
大豆粕 Soybean meal	11.50
膨化大豆 Extruded soybean	8.00
大豆浓缩蛋白 Soybean protein concentrate	6.00
大豆油 Soybean oil	1.30
鱼粉 Fish meal	4.50
低蛋白乳清粉 Low protein whey powder	6.00
葡萄糖 Glucose	2.50
蔗糖 Sucrose	2.50
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.32
石粉 Limestone	0.76
氯化胆碱 Choline chloride（50%）	0.10
食盐 NaCl	0.25
L-赖氨酸盐酸盐 *L*-Lys • HCl（78%）	0.35
DL-蛋氨酸 *DL*-Met（98.5%）	0.05

L-色氨酸 *L*-Trp	0.01
L-苏氨酸 *L*-Thr	0.03
维生素预混料 Vitamin premix[1]	0.05
微量元素预混料 Trace mineral premix[2]	0.30
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[3]	
消化能 DE/（MJ/kg）	14.66
粗蛋白质 CP	19.50
钙 Ca	0.75
总磷 TP	0.53
有效磷 AP	0.35
可消化赖氨酸 DLys	1.25
可消化蛋氨酸 DMet	0.35
可消化色氨酸 DTrp	0.21
可消化苏氨酸 DThr	0.70

[1] 维生素预混料为每千克饲粮提供 Vitamin premix provided the following per kg of the diet：VA 8 000 IU，VD_3 500 IU，VE 12.5 mg，VK_3 2.5 mg，VB_1 1 mg，VB_2 8 mg，VB_6 3 mg，VB_{12} 15 μg，叶酸 folic acid 0.25 mg，烟酸 nicotinic acid 17.5 mg，*D*–泛酸 *D*-pantothenic acid 12.5 mg。

[2] 微量元素预混料为每千克饲粮提供 Trace mineral premix provided the following per kg of the diet：Fe ($FeSO_4 . H_2O$) 100 mg，Cu ($CuSO_4 . 5H_2O$) 150 mg，Mn ($MnSO_4 . H_2O$) 20 mg，Zn ($ZnSO_4 . H_2O$) 100 mg，I (KI) 0.3 mg，Se (Na_2SeO_3) 0.3 mg。

[3] 营养水平均为计算值。Nutrient levels were all calculated values.

1.4 饲养管理

试验在四川农业大学动物营养研究所科研基地进行。室温保持在 26 ℃左右，每天喂料 4 次（08:00、12:00、16:00、20:00），每次以仔猪吃饱后料槽内略有余料为度，自由饮水。圈舍每天打扫，注意通风换气，定期消毒。

1.5 样品采集与处理

1.5.1 粪样

于试验第18～21天进行部分收粪，每天每个重复收150 g左右，加入10%粪便重量的10%稀硫酸，并加2滴甲苯，转入样品袋混匀，放入4 ℃冷冻保存，最后将每个重复4 d收集的粪样经充分混合后，65 ℃烘干达恒重后粉碎，过40目筛，于-20 ℃保存待测。

1.5.2 血浆

所有仔猪禁食 12 h 后，于试验第 22 和 29 天早上前腔静脉采血 10 mL，置于加肝素钠试管中，静置 30 min 后 3 500 r/min 离心 15 min，分离血浆，分装后于-20 ℃保存待测。

1.5.3 空肠黏膜

于试验第 29 天早上称重采血后，所有仔猪麻醉后迅速打开腹腔分离空肠，剪截完好无损的空肠中段 10 cm 左右，用预冷生理盐水冲洗，滤纸吸干多余水分，置于冰面上沿纵向剪开，用干净载玻片轻轻刮取黏膜并分装于冻存管中，液氮速冻后于-80 ℃保存待测。

1.6 检测指标与方法

1.6.1 生长性能

试验期间准确记录每个重复试验猪每天的采食量，在试验第1、22和29天早上试验猪空腹称重，计算1~21天和22~28天的平均日增重（average daily gain, ADG）、平均日采食量（average daily feed intake, ADFI）和料重比（feed/gain, F/G）。

1.6.2 养分表观消化率

饲粮及粪便中的干物质（DM）、有机物（OM）、粗灰分（Ash）、粗蛋白质（CP）、钙（Ca）、磷（P）、粗脂肪（EE）和能量（energy）含量的检测参照张丽英[11]的方法，盐酸不溶灰分（AIA）含量参照GB/T 23743—2009的灼烧处理法进行测定。饲粮养分消化率的计算公式如下：

$$\text{某养分消化率}(\%) = 100 - \frac{A1 \times F2}{A2 \times F1} \times 100。$$

式中：$F1$为饲粮中该养分含量（%）；$F2$为粪便中该养分含量（%）；$A1$为饲粮中AIA含量（%）；$A2$为粪便中AIA含量（%）。

1.6.3 血浆氧化还原指标

血浆总抗氧化能力（T-AOC），超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）和过氧化氢酶（CAT）活性以及丙二醛（MDA）含量采用比色法测定。所有试剂盒均购自南京建成生物工程研究所，详细操作方法参见试剂盒说明书。

1.6.4　空肠黏膜二糖酶活性

空肠黏膜中乳糖酶、蔗糖酶和麦芽糖酶活性的测定参照 Cao 等[12]的方法，试剂盒购于南京建成生物工程研究所，详细操作方法参见试剂盒说明书。

1.6.5　空肠黏膜养分转运载体 mRNA 表达量

采用实时荧光定量 PCR 技术检测空肠黏膜养分转运载体葡萄糖转运载体 2（*GLUT*2）、钠/葡萄糖转运载体 1（*SGLT*1）、碱性氨基酸转运载体 1（*SLC7A*1）、中性氨基酸转运载体（*NAAT*）和碱性氨基酸转运载体 7（*SLC*7A7）的 mRNA 相对表达量。组织中总 RNA 的提取和质量检测参照 Chen 等[13]的方法进行。cDNA 的合成采用试剂盒（Prime Script^{TM} reagent kit, TaKaRa, 日本）进行，具体操作步骤参照说明书。登陆 NCBI 获得目的基因 CDS 序列，引物用 Primer Premier 5.0 软件进行设计，并在 NCBI 中进行 BLAST 比对引物特异性，筛选出特异性好的引物序列送华大基因生物科技有限公司进行合成，引物序列见表 2。用实时定量 PCR 仪（ABI-7900）进行测定，RT-PCR 反应体系为 10 μL：SYBR Premix Ex Taq^{TM} Ⅱ (TaKaRa，日本) 5 μL，上下游引物各 0.4 μL，cDNA 1 μL，ddH$_2$O 3.2 μL。PCR 扩增条件为：95 ℃ 30 s；95 ℃ 5 s，60 ℃ 30 s，共 40 个循环；95 ℃ 15 s。内参基因为β–肌动蛋白（β-actin），相对荧光定量计算方法采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法[14]。

表 2　基因引物序列

Table 2　Primer sequences of genes

基因 Genes	引物序列 Primer sequences (5'—3')	登录号 Accession No.	产物大小 Product size/bp
葡萄糖转运载体 2 *GLUT*2	F:GACACGTTTTGGGTGTTCCG R:GAGGCTAGCAGATGCCGTAG	NM_001097417.1	149
钠/葡萄糖转运载体 1 *SGLT*1	F:GTGGCGGACAGTAGTGAACA R:TGTGGCAGAAGGCAGGATTT	NM_001164021.1	95
碱性氨基酸转运载体 7	F:TCTTTGCAGGTCGTTTGGGA	NM_001012613.1	192

SLC7A7	R:GGCTGATCACCTGTTGGAGT		
中性氨基酸转运载体 *NAAT*	F:GATTGTGGAGATGGAGGATGTG R:TGCGAGTGAAGAGGAAGTAGAT	XM_003355984.2	128
碱性氨基酸转运载体 1 *SLC7A1*	F:TTTGTTATGCGGAACTGG R:AAAGGTGATGGCAATGAC	NM_001164649.1	177
β-肌动蛋白 β-actin	F:TCCATCGTCCACCGCAAATG R:TTCAGGAGGCTGGCATGAGG	XM_003357928.2	124

1.7 数据处理与统计分析

所有数据均采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。其中，应激前仔猪的生长性能、营养物质消化率和血清相关指标采用 *t* 检验；应激后仔猪的生长性能、血清和空肠相关指标均采用双因素有互作方差分析，以 diquat（有、无）、饲粮 COS（有、无）及二者的互作为主效应，结合 Duncan 氏法进行多重比较。所有结果以平均值和总体标准误表示，$P<0.01$ 为差异极显著，$P<0.05$ 为差异显著，$0.05 \leq P<0.10$ 为有差异趋势。

2 结 果

2.1 COS 和氧化应激对仔猪生长性能的影响

由表 3 可知，注射 diquat 前（试验第 1～21 天），饲粮添加 COS 对仔猪的 ADG 和 ADFI 无显著影响（$P>0.05$），有降低 F/G 的趋势（$P=0.09$）。

注射 diquat 极显著降低试验第 22～28 天仔猪的 ADG 和 ADFI（$P<0.01$），极显著升高 F/G（$P<0.01$）；饲粮添加 COS 能显著抑制氧化应激仔猪 ADG 的下降（$P<0.05$），并使 ADFI 升高 7.69%，F/G 降低 13.69%，但差异均不显著（$P>0.05$）。

表 3 饲粮添加 COS 和注射 diquat 对仔猪生长性能的影响

Table 3 Effects of dietary COS and diquat injection on growth performance of piglets

项目 Items	敌草快 Diquat（−）		敌草快 Diquat（+）		SEM	*P* 值 *P*-value		
	壳寡糖 COS(−)	壳寡糖 COS（+）	壳寡糖 COS(−)	壳寡糖 COS（+）		壳寡糖 COS	敌草快 Diquat	壳寡糖×敌草快 COS×diquat
第 1～21 天 The 1st to 21st day (*n*=12)								
初重 IBW/kg	7.36	7.32			0.09	0.83		

平均日增重 ADG/(g/d)	396.95	419.71			8.65	0.20		
平均日采食量 ADFI/(g/d)	528.92	543.69			11.04	0.52		
料重比 F/G	1.34	1.30			0.01	0.09		
第 22～28 天 The 22nd to 28th day (*n*=6)								
初重 IBW/kg	15.59	15.95	15.60	15.94	0.24	0.91		
平均日增重 ADG /（g/d）	446.46^{a}	582.29^{a}	203.50^{b}	320.00^{b}	39.99	0.04	<0.01	0.86
平均日采食量 ADFI/（g/d）	745.84^{a}	839.46^{a}	498.00^{b}	536.28^{b}	40.46	0.26	<0.01	0.63
料重比 F/G	1.71^{b}	1.44^{b}	2.63^{a}	2.27^{a}	0.16	0.28	<0.01	0.87

+表示添加或滴注，−表示未添加或滴注。同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05），不同大写字母表示差异极显著（*P*<0.01），相同或无字母表示差异不显著（*P*>0.05）。下表同。

+ means added or injection; − means without added or no injection. In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (*P*<0.05), while with different capital letter superscripts mean extremely significant difference (*P*<0.05), and with the same or no letter superscripts mean no significant difference (*P*>0.05). The same as below.

2.2 COS 对氧化应激前仔猪养分消化率的影响

由表 4 可知，饲粮添加 COS 极显著升高氧化应激前仔猪对饲粮 CP、能量、Ash 和 P 的表观消化率（*P*<0.01），显著升高对饲粮 OM、DM、EE 和 Ca 的表观消化率（*P*<0.05）。

表 4 饲粮添加 COS 对注射 diquat 前仔猪养分表观消化率的影响

Table 4 Effect of dietary COS on apparent digestibility of nutrients of piglets before diquat injection %

项目 Items	壳寡糖 COS（−）	壳寡糖 COS（+）	SEM	*P* 值 *P*-value
干物质 DM	85.96^{b}	87.32^{a}	0.36	0.05
有机物 OM	85.53^{b}	86.58^{a}	0.27	0.05
粗蛋白质 CP	81.33^{B}	84.44^{A}	0.57	<0.01
粗脂肪 EE	69.88^{b}	71.95^{a}	0.74	0.04
能量 Energy	83.13^{B}	84.97^{A}	0.37	<0.01

粗灰分 Ash	48.69^{B}	54.74^{A}	0.91	<0.01
钙 Ca	56.60^{b}	60.09^{a}	0.80	0.03
磷 P	41.43^{B}	46.99^{A}	1.00	<0.01

2.3 COS 和氧化应激对仔猪血浆抗氧化能力的影响

由表5可知，注射diquat前，饲粮添加COS极显著升高仔猪血浆SOD活性（*P*<0.01），显著升高血浆T-AOC（*P*<0.05），对血浆CAT和GSH-Px活性及MDA含量无显著影响（*P*>0.05）。

注射diquat极显著降低了血浆CAT活性（*P*<0.01）；饲粮添加COS显著升高氧化应激仔猪的血浆SOD活性和T-AOC（*P*<0.05），有提高血浆GSH-Px活性的趋势（*P*=0.07）。

表5 饲粮添加COS和注射diquat对仔猪血浆抗氧化指标的影响

Table 5 Effects of dietary COS and diquat injection on plasma antioxidant indexes of piglets

U/mL

项目 Items	敌草快 Diquat（−）		敌草快 Diquat（+）		SEM	*P* 值 *P*-value		
	壳寡糖 COS(−)	壳寡糖 COS（+）	壳寡糖 COS(−)	壳寡糖 COS（+）		壳寡糖 COS	敌草快 Diquat	壳寡糖×敌草快 COS×diquat
第 22 天 The 22nd day								
超氧化物歧化酶 SOD	70.05^{A}	76.15^{B}	--	--	1.03	<0.01	--	--
总抗氧化能力 T-AOC	0.93^{a}	1.25^{b}	--	--	0.08	0.04	--	--
过氧化氢酶 CAT	12.51	14.08	--	--	0.58	0.19	--	--
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px	497.39	527.35	--	--	10.05	0.14	--	--
丙二醛 MDA	1.66	1.45	--	--	0.09	0.25	--	--
第 29 天 The 29th day								
超氧化物歧化酶	83.83^{ab}	89.37^{a}	80.88^{b}	86.65^{a}	1.07	0.01	0.12	0.95

SOD								
总抗氧化能力 T-AOC	1.00[ab]	1.31[a]	0.72[b]	1.31[a]	1.00	0.02	0.41	0.40
过氧化氢酶 CAT	12.85[ab]	15.62[a]	8.37[b]	8.30[b]	1.01	0.39	<0.01	0.36
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px	503.71	558.15	493.06	532.99	12.46	0.07	0.47	0.77
丙二醛 MDA	1.96	1.76	2.01	1.80	0.14	0.51	0.88	0.99

2.4 COS 和氧化应激对仔猪空肠黏膜二糖酶活性及养分转运载体 mRNA 表达的影响

由表 6 可知，注射 diquat 显著降低了仔猪空肠黏膜中蔗糖酶、乳糖酶和麦芽糖酶的活性（*P*<0.05）；饲粮添加 COS 显著改善了空肠黏膜蔗糖酶、乳糖酶和麦芽糖酶的活性（*P*<0.05），且与 diquat 组相比，diquat+COS 组仔猪的乳糖酶、蔗糖酶和麦芽糖酶活性分别升高 24.09%（*P*>0.05）、30.66%（*P*<0.05）和 20.16%（*P*>0.05）。饲粮添加 COS 和注射 diquat 对仔猪空肠黏膜二糖酶活性无显著交互作用（*P*>0.05）。

表 6　饲粮添加 COS 和注射 diquat 对仔猪空肠黏膜二糖酶活性的影响

Table 6　Effect of dietary COS and diquat injection on the activities of disaccharidases of jejunum mucosa of piglets　　U/mg prot

项目 Items	敌草快 Diquat（－）		敌草快 Diquat（+）		SEM	*P* 值 *P*-value		
	壳寡糖 COS（－）	壳寡糖 COS（+）	壳寡糖 COS（－）	壳寡糖 COS（+）		壳寡糖 COS	敌草快 Diquat	壳寡糖×敌草快 COS×diquat
乳糖酶 Lactase	56.53[ab]	63.86[a]	41.71[b]	51.76[ab]	1.95	0.02	0.03	0.78
蔗糖酶 Sucrase	25.59[a]	28.39[a]	17.48[b]	22.84[a]	1.21	0.04	0.04	0.83
麦芽糖酶 Maltase	56.06[a]	60.36[a]	38.25[b]	45.96[b]	2.21	0.03	0.02	0.87

由表 7 可知，注射 diquat 显著下调空肠黏膜 *GLUT*2 和 *SGLT*1 的 mRNA 表达量（*P*<0.05），而对 *SLC7A*7、*NAAT* 和 *SLC7A*1 的 mRNA 表达量无显著影响（*P*>0.05）；添加 COS 显著抑制注射 diquat 诱导的 *GLUT*2 和 *SGLT*1 mRNA 表达量的下调（*P*<0.05）。饲粮添加 COS 和注

射 diquat 对仔猪空肠黏膜养分转运载体的 mRNA 表达量无显著交互作用（$P>0.05$）。

表 7　饲粮添加 COS 和注射 diquat 对仔猪空肠黏膜养分转运载体 mRNA 表达的影响

Table 7　Effects of dietary COS and diquat injection on mRNA expression of nutrient transport carrier of jejunum mucosa of piglets

项目 Items	敌草快 Diquat（−）		敌草快 Diquat（+）		SEM	*P* 值 *P*-value		
	壳寡糖 COS(−)	壳寡糖 COS（+）	壳寡糖 COS(−)	壳寡糖 COS（+）		壳寡糖 COS	敌草快 Diquat	壳寡糖×敌草快 COS×diquat
葡萄糖转运载体 2 *GLUT*2	1.00[b]	1.61[a]	0.41[c]	0.94[b]	0.07	0.03	0.04	0.83
钠/葡萄糖转运载体 1 *SGLT*1	1.00[a]	1.11[a]	0.55[b]	0.97[a]	0.09	0.04	0.05	0.85
碱性氨基酸转运载体 7 *SLC7A7*	1.00	0.99	1.09	0.95	0.09	0.87	0.90	079
中性氨基酸转运载体 *NAAT*	1.00	1.13	0.73	0.90	0.11	0.75	0.78	0.82
碱性氨基酸转运载体 1 *SLC7A1*	1.00	1.07	0.68	0.66	0.12	0.78	0.77	0.79

3　讨　论

正常饲养条件下，饲粮添加 COS 对仔猪生长性能的影响已有许多报道。Chen 等[7]发现，COS 能够显著提高仔猪的 ADG 和 ADFI，且 0.5%的添加量优于 0.25%。Yang 等[9]也发现，饲粮添加 0.04%和 0.06%的 COS 可提高断奶仔猪的 ADG 和饲料转化率。但 Han 等[15]研究表明，饲粮添加 0.3%和 0.4%的 COS 对断奶仔猪的 ADG 无显著影响，但可改善饲料转化率。本研究也发现，正常饲养条件下，饲粮添加 50 mg/kg COS 有降低仔猪 F/G 的趋势。饲粮添加 COS 对仔猪生长性能影响不一致的原因，可能与试验仔猪所处的生理阶段及试验所用 COS 产品不同有关。COS 是由 2~10 个氨基葡萄糖通过β-1,4-糖苷键连接而成的低聚糖，因其组分比例及乙酰化程度的不同，生物学效应存在差异[16-17]。大量研究表明，饲粮添加 COS

可改善仔猪的饲料转化效率，可能与其能显著提高饲粮养分消化率有关。Liu 等[8]研究表明，200 mg/kg COS 能够显著提高 16 日龄断奶仔猪对饲粮总能量、DM、CP、EE、Ca 和 P 的吸收。Walsh 等[17]在仔猪饲粮中添加 250 mg/kg 不同分子质量的 COS，发现与分子质量<1、3~5、10~50 和 51~100 ku 的 COS 相比，5~10 ku 的 COS 能极显著提高仔猪对饲粮 DM、OM 和 CP 等的表观消化率。本试验也发现，正常饲养条件下，50 mg/kg COS 能显著或极显著提高仔猪对饲粮 CP、能量和 OM 等的表观消化率，其原因可能与 COS 能提高仔猪的抗氧化能力和改善肠黏膜屏障功能有关。正常饲养条件下，50 mg/kg COS 可显著提高仔猪血浆 SOD 活性和 T-AOC，与龙次民等[10]在妊娠后期母猪和新生仔猪上的报道结果相一致，即饲粮添加 30 mg/kg COS 能显著提高母猪和新生仔猪血液抗氧化酶活性，降低 MDA 含量。此外，研究也表明，COS 能够改善肠道形态结构，增加肠道绒毛密度和高度，降低隐窝深度，增加肠道内吸收面积，促进营养物质的消化吸收[18]。

在仔猪的生命过程中常常会遭受各种应激，导致体内活性氧自由基（ROS）的大量产生，如高温、炎症、断奶、高代谢负担等[19]。过量的 ROS 若不能被机体的氧化还原系统有效清除，则会导致氧化应激，后者会影响仔猪的健康和生长性能。因此，寻求能有效保护仔猪免遭氧化应激危害的功能性产品是仔猪营养研究领域的热点之一。研究已证明，在腹腔注射 diquat 诱导的氧化应激模型条件下，仔猪的 ADFI 和 ADG 可分别降低 29.74%和 40.57%，F/G 升高 45.35%[20]。本试验研究发现，注射 diquat 极显著降低试验第 22～28 天仔猪的 ADG 和 ADFI，极显著升高 F/G；饲粮添加 COS 能显著抑制氧化应激仔猪 ADG 的下降，并使 ADFI 升高 7.69%，F/G 降低 13.69%，提示 COS 能有效缓解氧化应激导致的仔猪生长性能降低。

COS对氧化应激仔猪的保护效应可能是通过增强机体抗氧化功能、保护肠道消化酶活性和养分转运载体而实现的。Sun等[21]体外研究表明，COS对细胞中超氧阴离子有较好的清除效果，与维生素C和SOD相当。也有研究发现，COS对自由基的清除能力会随着COS浓度的升高而增强[22]。本试验研究发现，注射diquat导致血浆CAT活性极显著下降，饲粮添加COS则显著改善氧化应激仔猪的血浆SOD活性和T-AOC，且有提高血浆GSH-Px活性的趋势。这表明，饲粮添加COS能在仔猪遭受氧化应激时提高血浆中抗氧化酶活性和抗自由基能力，进而缓解遭受的氧化损伤。与此同时，因注射diquat会导致仔猪采食量急剧下降，甚至发生呕吐、腹泻等现象，肠道作为消化吸收的主要器官首先遭受缺血而又最迟得到恢复，当组织再

灌注提供氧，出现爆发性氧消耗，同时产生大量超氧自由基，导致肠道遭受应激损伤进而影响其功能。小肠二糖酶是二糖分解的关键酶，其活性的高低可直接反映肠道对糖类物质的消化能力。本试验研究发现，注射diquat后仔猪空肠黏膜二糖酶活性显著降低，可能与应激后仔猪采食量骤降有关。肠腔中营养物质的吸收，主要依赖于上皮细胞刷状缘和基底膜上不同的载体转运系统。其中，葡萄糖的吸收主要通过位于肠道黏膜上皮细胞的钠/葡萄糖转运载体(sodium/glucose cotransporter, SGLT)家族和葡萄糖转运载体(glucose transporter, GLUT)家族来完成，SGLT1和GLUT2分别是2个家族的重要成员且分布于肠道黏膜上皮细胞。同样，氨基酸的吸收转运需要氨基酸转运载体，后者可分为中性、碱性和酸性氨基酸转运载体。李丽娟[23]研究发现，氧化应激可显著降低仔猪肠道黏膜*SGLT*1和*GLUT*2的mRNA表达量。Yin等[24]研究却发现，注射diquat诱导氧化应激对仔猪空肠氨基酸转运载体*SLC*7*A*1、*NAAT*和*SLC*7*A*7的mRNA表达量无显著影响。本试验研究发现，注射diquat显著下调空肠黏膜*GLUT*2和*SGLT*1的mRNA表达量，而*SLC*7*A*1、*NAAT*和*SLC*7*A*7的mRNA表达量无显著变化。COS的添加可有效缓解肠道结构和功能的损伤。Xu等[25]研究表明，添加COS可提高断奶应激仔猪的空肠淀粉酶活性，并呈剂量依赖关系。Xiao等[26]在大肠杆菌攻毒仔猪饲粮中添加30 mg/kg COS能显著修复空肠的形态结构，增加绒毛高度，降低隐窝深度。本试验研究也发现，50 mg/kg COS能显著增加氧化应激仔猪空肠黏膜二糖酶活性及*GLUT*2和*SGLT*1的mRNA表达量，但对氨基酸转运载体*SLC*7*A*7、*NAAT*和*SLC*7*A*1的mRNA表达量无显著影响。综上分析，COS对应激仔猪的保护作用，可能是通过增强机体的抗氧化能力，缓解注射diquat导致的ROS的产生和（或）增强机体对ROS的清除，维护肠道结构和功能的完整性，进而缓解应激对仔猪生长性能的危害。

4 结 论

①正常饲养条件下，饲粮添加 COS 可显著改善仔猪对饲粮的养分消化率，增强机体的抗氧化能力，有降低 F/G 的趋势；

②氧化应激条件下，COS可通过改善机体的抗氧化能力，缓解diquat诱导的氧化应激，提高应激仔猪的空肠养分消化和转运能力，缓解氧化应激导致的增重下降。

参考文献：

[1] BHATTACHARYYA A,CHATTOPADHYAY R,MITRA S,et al.Oxidative stress:an essential

factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases[J].Physiological Reviews,2014,94(2):329–354.

[2] YUAN S B,CHEN D W,ZHANG K Y,et al.Effects of oxidative stress on growth performance,nutrient digestibilities and activities of antioxidative enzymes of weanling pigs[J].Asian Australasian Journal of Animal Sciences,2007,20(10):1600–1605.

[3] 胡志鹏.壳寡糖的研究进展[J].中国生化药物杂志,2003,24(4):210–212.

[4] ZOU P,YANG X,WANG J,et al.Advances in characterisation and biological activities of chitosan and chitosan oligosaccharides[J].Food Chemistry,2016,190:74–81.

[5] LIU H T,LI W M,XU G,et al.Chitosan oligosaccharides attenuate hydrogen peroxide-induced stress injury in human umbilical vein endothelial cells[J].Pharmacological Research,2009,59(3):167–175.

[6] SWIATKIEWICZ S,SWIATKIEWICZ M,ARCZEWSKA-WLOSEK A,et al.Chitosan and its oligosaccharide derivatives (chito-oligosaccharides) as feed supplements in poultry and swine nutrition[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2015,99(1):1–12.

[7] CHEN Y J,KIM I H,CHO J H,et al.Effects of chitooligosaccharide supplementation on growth performance,nutrient digestibility,blood characteristics and immune responses after lipopolysaccharide challenge in weanling pigs[J].Livestock Science,2009,124(1/2/3):255–260.

[8] LIU P,PIAO X S,KIM S W,et al.Effects of chito-oligosaccharide supplementation on the growth performance,nutrient digestibility,intestinal morphology,and fecal shedding of *Escherichia coli* and *Lactobacillus* in weaning pigs[J].Journal of Animal Science,2008,86(10):2609–2618.

[9] YANG C M,FERKET P R,HONG Q H,et al.Effect of chito-oligosaccharide on growth performance,intestinal barrier function,intestinal morphology and cecal microflora in weaned pigs[J].Journal of Animal Science,2012,90(8):2671–2676.

[10] 丁雪梅,迟晓枫,李小聪,等.饲粮中添加壳寡糖对肉鸡抗氧化性能的影响[J].四川农业大学学报,2017,35(4):568–573.

[11] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].3 版.北京:中国农业大学出版社,2007.

[12] CAO W,LIU G M,FANG T T,et al.Effects of spermine on the morphology,digestive enzyme activities,and antioxidant status of jejunum in suckling rats[J].RSC Advances,2015,5(93):76607–76614.

[13] CHEN Y,CHEN D W,TIAN G,et al.Dietary arginine supplementation alleviates immune challenge induced by *Salmonella enterica* serovar choleraesuis bacterin potentially through the Toll-like receptor 4-myeloid differentiation factor 88 signalling pathway in weaned piglets[J].British Journal of Nutrition,2012,108(6):1069–1076.

[14] LIVAK K J,SCHMITTGEN T D.Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method[J].Methods,2001,25(4):402–408.

[15] HAN K N,KWON I K,LOHAKARE J D,et al.Chito-oligosaccharides as an alternative to antimicrobials in improving performance,digestibility and microbial ecology of the gut in weanling pigs[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2007,20(4):556–562.

[16] QUINTERO-VILLEGAS M I,AAM B B,RUPNOW J,et al.Adherence inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* by chitooligosaccharides with specific degrees of acetylation and polymerization[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2013,61(11):2748–2754.

[17] WALSH A M,SWEENEY T,BAHAR B,et al.The effects of supplementing varying molecular weights of chitooligosaccharide on performance,selected microbial populations and nutrient digestibility in the weaned pig[J].Animal,2013,7(4):571–579.

[18] LI X J,PIAO X S,KIM S W,et al.Effects of chito-oligosaccharide supplementation on performance,nutrient digestibility,and serum composition in broiler chickens[J].Poultry Science,2007,86(6):1107–1114.

[19] CELI P,GABAI G.Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health:the role of protein oxidation[J].Frontier in Veterinary Science,2015,2:48.

[20] 赵娇,周招洪,梁小芳,等.葡萄籽原花青素及维生素 E 对氧化应激仔猪生长性能、血清氧化还原状态和肝脏氧化损伤的影响[J].中国农业科学,2013,46(19):4157–4164.

[21] SUN T,XIE W M,XU P X.Superoxide anion scavenging activity of graft chitosan derivatives[J].Carbohydrate Polymers,2004,58(4):379–382.

[22] 张吉,刘洪涛,李秀英,等.壳寡糖对自由基的清除及对 N9 小胶质细胞的保护作用[J].食品科学,2010,31(7):81–85.

[23] 李丽娟.氧化应激对仔猪肠细胞葡萄糖转运能力及转运载体表达量的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2007.

[24] YIN J,LIU M,REN W,et al.Effects of dietary supplementation with glutamate and aspartate on diquat-induced oxidative stress in piglets[J].PLoS One,2015,10(4):e0122893.

[25] XU Y,SHI B,YAN S,et al.Effects of chitosan supplementation on the growth performance,nutrient digestibility,and digestive enzyme activity in weaned pigs[J].Czech Journal of Animal Science,2014,59(4):156–163.

[26] XIAO D F,TANG Z R,YIN Y L,et al.Effects of dietary administering chitosan on growth performance,jejunal morphology,jejunal mucosal *sIgA*,occluding,claudin-1 and *TLR*4 expression in weaned piglets challenged by enterotoxigenic *Escherichia coli*[J].International Immunopharmacology,2013,17(3):670–676.

Effects of Chitooligosaccharides on Growth Performance, Antioxidant Capacity and Nutrient Digestion and Transport Capacity of Jejunum of Oxidative Stress Piglets

TIAN Gang　HUANG Linhui　SONG Xiaohua　CHEN Daiwen　MAO Xiangbing　YU Jie
ZHENG Ping　HE Jun　YU Bing*

（1. *Key Laboratory for Animal Disease-Resistance Nutrition of Ministry of Education, Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Chengdu* 611130, *China*）

Abstract: This study was conducted to evaluate the effects of dietary chitooligosaccharides (COS) on growth performance, antioxidant capacity and nutrient digestion and transport capacity of jejunum of piglets under normal feeding and oxidative stress statues. Twenty four 24-day-old healthy Duroc×Landrace×Yorkshire weaned piglets with average body weight (BW) of (7.34±0.09) kg were randomly divided into control, COS, diquat, COS+diquat groups with 6 replicates per

*Corresponding author, professor, E-mail: ybingtian@163.com　（责任编辑　李慧英）

group and 1 pig per replicate by a 2×2 two factorial arrangement. The trial lasted for 28 days. COS was given all in the trial (50 mg/kg diet). Diquat challenged pigs were given a single intraperitoneal injection of diquat at the 22nd day and non-challenged pigs were injected intraperitoneally with the equal amount of physiological saline at the same time. Digestion trial was carried out from the 18th to 21st day by the method of endogenous indicator, blood were fasting sampled via *anterior vena cava* and then pigs were injected with diquat in the morning of the 22nd day, and pigs were slaughtered after blood sampled via *anterior vena cava* and jejunum mucosa samples were sampled in the morning of the 29th day. The results showed as follows: 1) before diquat injection, there were no significant effects of dietary COS on average daily feed intake (ADFI) and average daily gain (ADG) of piglets ($P>0.05$), but the ratio of feed to gain (F/G) was tended to decreased ($P=0.09$). Dietary COS significantly increased the apparent digestibilities of dry matter, organism matter, crude protein, ether extract, energy, ash, calcium and phosphor in diet of piglets ($P<0.05$), and significantly increased the activity of superoxide dismutase (SOD) and T-AOC in plasma of piglets ($P<0.05$). 2) After diquat injection, ADG and ADFI of piglets were significantly decreased and F/G was significantly increased ($P<0.01$). Dietary COS significantly inhibited the reduction of ADG of piglets induced by diquat injection ($P<0.05$). 3) After diquat injection, the activity of catalase (CAT) in plasma ($P<0.01$) and lactase, sucrase and maltase of jejunum mucosa ($P<0.05$), and mRNA expression levels of glucose transporter 2 (*GLUT*2) and sodium/glucose transporter 1 (*SGLT*1) of jejunum mucosa ($P<0.05$) of piglets were significantly decreased. Dietary COS significantly increased the activity of SOD and T-AOC in plasma ($P<0.05$), and significantly relieved reduction of the activities of disaccharidases and mRNA expression levels of *GLUT*2 and *SGLT*1 of jejunum mucosa of oxidative stress piglets ($P<0.05$). In conclusion, under normal feeding statues, dietary 50 mg/kg COS can significantly improve nutrients digestibilities in diets and antioxidant capacity, decrease F/G of piglets. In oxidative stress statues, COS can improve antioxidant capacity, alleviate oxidative stress induced by diquat injection, improve nutrient digestion and transport capacity of jejunum and relieve the reduction of weight gain of oxidative stress piglets.

Key words: chitooligosaccharides; weaned piglets; antioxidant; jejunum mucosa; nutrient digestion and transport